海南地区螺旋粉虱三类次级内共生菌的检测及系统发育分析

于卫卫[1,2], 杜予州[1,2,*], 李伟东[3]

(1. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009; 2. 扬州大学应用昆虫研究所, 江苏扬州 225009;
3. 海南出入境检验检疫局, 海口 570311)

摘要: 螺旋粉虱 *Aleurodicus dispersus* Russell 是一种重要的农林害虫。本研究分别利用次级内共生菌 *Cardinium* 和 *Arsenophonus* 的 16S rDNA 和 *Wolbachia wsp* 基因对海南省 16 地区的螺旋粉虱的 3 种次级内共生菌 *Cardinium*, *Arsenophonus* 和 *Wolbachia* 感染情况及相关基因序列进行了测定和分析。3 种次级内共生菌 *Cardinium*, *Arsenophonus* 和 *Wolbachia* 检测结果表明, *Cardinium* 和 *Arsenophonus* 均可感染海南地区的螺旋粉虱, 其中乐东、陵水和澄迈 3 个地区所有寄主上的螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 感染率为 100%, 三亚、琼中和临高部分寄主上的螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 感染率为 66.7%, 而儋州、五指山和万宁 3 个地区的螺旋粉虱未发现被 *Arsenophonus* 感染; 三亚的番石榴上的螺旋粉虱的 *Cardinium* 感染率为 100%, 琼海白沙的印度紫檀上螺旋粉虱的 *Cardinium* 感染率为 100%, 其他寄主上的感染率均小于 66.7%; 在所检测的 43 个螺旋粉虱种群中, 40 和 31 个种群中分别检测出有 *Arsenophonus* 和 *Cardinium* 感染, 种群感染率分别为 93.0% 和 72.1%; 在所有检测的个体中, 120 个个体中有 105 个感染 *Arsenophonus*, 93 个个体中有 70 个感染 *Cardinium*, 个体感染率分别为 87.5% 和 75.3%; 在检测的所有样本中, 只有三亚印度紫檀上的螺旋粉虱检测到 *Wolbachia*, 种群感染率为 2.3%, 个体感染率仅为 0.8%。这些检测结果表明, 海南地区螺旋粉虱次级内共生菌 *Arsenophonus* 的感染率高于 *Cardinium* 的感染率, *Wolbachia* 的感染率极低。序列分析表明, 海南不同螺旋粉虱种群的 *Cardinium* 的 16S rDNA 序列一致, 而且与烟粉虱的 *Cardinium* 16S rDNA 序列一致性很高, 为 97.6%; 不同螺旋粉虱种群的 *Arsenophonus* 的 16S rDNA 序列也完全一致, 其与西班牙加那利群岛螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 的 16S rDNA 序列一致性较高, 为 85.1%。此外, *Wolbachia wsp* 基因序列分析表明, 海南螺旋粉虱的 *Wolbachia* 为 B 组, 这是国内螺旋粉虱感染 *Wolbachia* 的首次报道。

关键词: 螺旋粉虱; *Cardinium*; *Arsenophonus*; *Wolbachia*; 感染率; 系统发育分析

中图分类号: Q965.8　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2013)01-0018-11

Detection and phylogenetic analysis of three secondary endosymbionts in populations of *Aleurodicus dispersus* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Hainan, southern China

YU Wei-Wei[1,2], DU Yu-Zhou[1,2,*], LI Wei-Dong[3] (1. College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009; 2. Institute of Applied Entomology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China; 3. Hainan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Haikou 570311, China)

Abstract: The spiralling whitefly (SWF), *Aleurodicus dispersus* Russell, is an important agricultural and forest pest. In this study, we detected and analyzed the infection status and the gene sequences of three secondary endosymbionts *Cardinium*, *Arsenophonus* and *Wolbachia* in the SWF populations of 16 districts in Hainan province, southern China, based on 16S rDNA of *Cardinium* and *Arsenophonus* and *wsp* gene of *Wolbachia*. The results showed that the spiraling whitefly was infected by both *Cardinium* and *Arsenophonus*. The infection rate of *Arsenophonus* was 100% in *A. dispersus* populations from Ledong, Lingshui and Chengmai, and 66.7% in the populations from Sanya, Qiongzhong and Lingao, while there is no infection of *Arsenophonus* in the populations from Danzhou, Wuzhishan and Wanning. Similarly, the infection rate of *Cardinium* was 100% in *A. dispersus* populations on host plants *Pterocarpus indicus* in Qionghai and Baisha and *Psidium guajava* in Sanya, and less than 66.7% in the populations on other

---

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201103026; 200803023)

作者简介: 于卫卫, 女, 1986 年生, 山东德州人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生物学与外来生物入侵, E-mail: yuweiwei1997@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: yzdu@yzu.edu.cn

收稿日期 Received: 2012-11-07; 接受日期 Accepted: 2012-12-21

host plants. Among the 43 populations of *A. dispersus* detected, 40 and 31 populations were infected with *Arsenophonus* and *Cardinium*, with the infection rates of populations of 93.0% and 72.1%, respectively. Among the tested 120 individuals for detecting *Arsenophonus* infection and 93 individuals for detecting *Cardinium* infection, the numbers of infected individuals by *Arsenophonus* and *Cardinium* are 105 and 70, with the infection rate of individuals of 87.5% and 75.3%, respectively. The infection rate of populations and the infection rate of individuals by *Wolbachia* were 2.3% and 0.8%, respectively. The *Cardinium* 16S rDNA gene of different populations of *A. dispersus* in Hainan shares the same sequence, and has a high identity (97.6%) with the *Cardinium* 16S rDNA gene of *Bemisia tabaci*. The *Arsenophonus* 16S rDNA gene of different populations of *A. dispersus* in Hainan also shares the same sequence, with 85.1% identity with the *Arsenophonus* 16S rDNA gene in *A. dispersus* population in Canary Islands. In addition, *Wolbachia* in *A. dispersus* belongs to B group according to the analysis of *wsp* genes, and this is the first record in China.

Key words: *Aleurodicus dispersus*; *Cardinium*; *Arsenophonus*; *Wolbachia*; infection rate; phylogenetic analysis

螺旋粉虱 *Aleurodicus dispersus* Russell 隶属半翅目(Hemiptera)，胸喙亚目(Sternorrhyncha)，粉虱科(Aleyrodidae)，复孔粉虱亚科(Aleurodicinae)，复孔粉虱属 *Aleurodicus*，其英文名为 spiralling whitefly (SWF)，主要分布于热带、亚热带地区，包括西印度群岛、南美、太平洋群岛、非洲、印度及东南亚等地，是一种重要的农林害虫(Mani and Krishnamoorthy, 1999)。该虫起源于中美洲和加勒比海一带，1905 年在西印度群岛的马提尼克岛的番石榴上首次发现，1965 被记述为新种(Russell, 1965)，现已传播蔓延到世界许多地区(CABI, 1993; Neuenschwander, 1994; 温宏治等, 1994; Lambkin, 1999; Ramani *et al.*, 2002; 钟宝珠等, 2009)。1988 年，在我国台湾省高雄市大寮乡首次发现螺旋粉虱危害番石榴(温宏治等, 1994, 1997)；2006 年 4 月在海南省陵水县发现该虫入侵(虞国跃等, 2007)。目前，已知螺旋粉虱的寄主植物 109 科，743 种，我国已记录寄主植物 81 科，284 种(虞国跃, 2011)。在我国海南，行道树以印度紫檀和榄仁树受害最为严重，果树以番石榴和番荔枝受害最为严重(韩冬银等, 2008; 曹凤勤等, 2010)。

昆虫体内通常存在多种内共生菌，并与昆虫协同进化(Zchori-Fein and Brown, 2002; Nirgianaki *et al.*, 2003)。内共生菌分为初级内共生菌(primary endosymbiont)和次级内共生菌(secondary endosymbiont)，其中初级内共生菌存在于菌胞体中并和昆虫宿主基因协同进化(这与其一次感染宿主并垂直传递是一致的)，同时为宿主提供必需的氨基酸，通常一种昆虫只有一种初级内共生菌(Douglas, 1998; Moran *et al.*, 2003; Thao and Baumann, 2004b)。次级内共生菌并不局限于宿主菌胞体内，还分布于寄主其他细胞内，由于这类共生菌感染寄主的历史较短，因此和寄主的协同进化关系较为松散，而且一种昆虫可以感染多种次级内共生菌(Douglas, 1998; 庞淑婷等, 2010)。与昆虫密切相关的次级内共生菌主要有沃尔巴克氏体 *Wolbachia*、*Cardinium* 和杀雄菌 *Arsenophonus* 等。*Arsenophonus* 隶属变形菌门(Proteobacteria)、γ 变形菌纲(Gammaproteobacteria)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)，该菌能使寄主昆虫生殖异常(Gherna *et al.*, 1991; Nirgianaki *et al.*, 2003)。*Cardinium* 隶属拟杆菌门(Bacteroidetes)、鞘脂杆菌纲(Sphingobacteria)、屈挠杆菌科(Flexibacteraceae)；相关研究表明，*Cardinium* 可以改变节肢动物寄主的生殖方式和生殖力(Zchori-Fein and Perlman, 2004)。*Wolbachia* 是广泛存在于节肢动物体内的一类呈母性遗传的细胞内立克次氏体，隶属变形菌门(Proteobacteria)、变形菌纲(Alphaproteobacteria)、立克次氏体目(Rickettsiales)、立克次氏体科(Rickettsiaceae)；*Wobachia* 主要分布在生殖组织中，通过垂直传递方式传递，在宿主种内的不同个体间也存在水平传递；此外，*Wobachia* 也可以在不同物种个体之间进行水平传递(Hoffmann and Turelli, 1997; Werren, 1997; Werren *et al.*, 2008)。Thao 和 Baumann (2004a, 2004b) 利用初级内共生菌和沙雄菌 *Arsenophonus* 研究粉虱的系统发育时提到螺旋粉虱。王甸洪等(2012)通过 PCR-DGGE 和 16S rRNA 文库分析了螺旋粉虱成虫体内细菌群落多样性。

本研究对海南省不同地区螺旋粉虱种群感染

Cardinium，*Arsenophonus* 和 *Wolbachia* 的情况进行检测，并对 *Cardinium* 和 *Arsenophonus* 的 16S rDNA 序列以及 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列进行分析，研究结果可为螺旋粉虱内共生菌研究提供依据，并且为进一步探讨海南螺旋粉虱的遗传分化和入侵机制提供依据。

1 材料及方法

1.1 试验材料

2009 年 8 – 9 月，对海南省 13 个县市的 12 种寄主植物上的螺旋粉虱进行调查采集，将成活的螺旋粉虱成虫浸泡在无水酒精中，然后置于 –20℃ 的冰箱中保存备用。研究材料的相关信息见表 1。

1.2 螺旋粉虱内共生菌模板 DNA 的提取

挑取单头螺旋粉虱置于 0.5 mL 离心管中，加入 30 μL 裂解液(1% SDS，500 mmol/L Tris-HCl，20 mmol/L NaCl，1 mmol/L EDTA，200 mg/mL 蛋白酶 K 溶液)研磨成匀浆后放入 56℃ 恒温水浴锅中温浴 2 ~ 3 h；再放入 95℃ 水浴锅中放置 10 min，使蛋白酶失活；短暂离心后取出上清，直接置于 –20℃ 冰箱中保存备用。

1.3 PCR 扩增及检测

本实验用于扩增的 3 类次级内共生菌及目的片段的引物见表 2。

1.4 PCR 反应体系

3 种次级内共生菌基因扩增体系均为 25 μL：10 mmol/L 10 × buffer 2 μL、5 μg 模板 DNA、20 μmol/L 上下游引物各 1 μL、0.1 mmol/L 每种 dNTPs 2 μL、2.5 ~ 3.0 mmol/L $MgCl_2$ 1 μL 和 Taq 酶 2.5 U，其余用 ddH_2O 补充。

Cardinium 16S rDNA 的 PCR 反应程序为：首先 95℃ 预变性 5 min，95℃ 变性 30 s，60.5℃ 退火 30 s，72℃ 延伸 45 s，30 个循环；最后 72℃ 延伸 10 min。*Arsenophonus* 16S rDNA 的 PCR 反应程序为：首先 95℃ 预变性 5 min，95℃ 变性 30 s，57℃ 退火 30 s，72℃ 延伸 30 s，30 个循环；最后 72℃ 延伸 10 min。*Wolbachia wsp* 的 PCR 反应程序：首先 95℃ 预变性 3 min，94℃ 变性 35 s，55℃ 退火 30 s，72℃ 延伸 30 s，40 个循环，最后 72℃ 延伸 10 min。

1.5 扩增产物检测、测序及序列分析

PCR 扩增产物在含有 0.5 μg/mL EB 的 1% 琼脂糖胶上进行电泳检测。电泳结束后，将凝胶置于紫外分析仪上观察，标识每条扩增带的分子量大小，并用凝胶成像仪拍照后记录结果。PCR 产物直接测序，测序工作由北京中美泰和生物技术有限公司测序，为确保测序结果的准确性，均在 ABI PRISMTM 3730XL DNA 自动测序仪上进行双向测序。获得测序结果后，首先采用 ContigExpress 软件并结合测序峰值图对每个样品得到的正反两向序列进行拼接校对，得到基因的完整序列，确保序列准确无误后将其保存为文本格式的文件。然后利用网络同源序列搜索引擎 BLAST(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)对 GenBank 中的同源序列进行比较，确定为所需要的目的基因后，提交测序结果获得序列在 GenBank 中的登录号。最后使用 Clustal X 1.83(Chenna *et al*., 2003)进行序列联配(sequence alignment)，比对结果保存为 CLUSTAL，PHYLIP 及 NEXUS 3 种文件(当同一地理种群存在相同序列时，则选取其中一条)，以备后续分析使用。用 MEGA4.0 软件，根据 Kimura 2-paramter 模型，采用邻接法(NJ)构建系统树，系统树各分支置信度(boostrap)均进行 1 000 次的重复检验。

2 结果与分析

2.1 螺旋粉虱次级内共生菌目的基因的 PCR 检测

利用引物 Ch-F 和 Ch-R 扩增螺旋粉虱的 *Cardinium* 16S rDNA 片段，得到理想的扩增条带，其 PCR 扩增片段大小约为 300 bp(图 1)。利用引物 Ars16S-F 和 Ars16S-R 扩增螺旋粉虱的杀雄菌 *Arsenophonus* 16S rDNA 片段，得到理想的扩增条带，其 PCR 扩增片段大小约为 810 bp(图 2)。

2.2 螺旋粉虱 3 种次级内共生菌的感染率

由表 1 可知，*Cardinium* 和 *Arsenophonus* 均可以感染海南地区的螺旋粉虱，其中乐东、陵水和澄迈 3 个地区所有寄主上的螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 感染率均为 100%，三亚、琼中和临高的部分寄主上的螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 感染率为 66.67%，而儋州、五指山和万宁 3 个地区的螺旋粉虱未发现被 *Arsenophonus* 感染；三亚的番石榴的上的螺旋粉虱的 *Cardinium* 感染率为 100%，琼海白沙的印度紫檀上的螺旋粉虱的 *Cardinium* 感染率为 100%，其他寄主的感染率均小于 66.7%。

由表 3 可见，在 43 个被检测的螺旋粉虱种群中，感染 *Arsenophonus* 和 *Cardinium* 的螺旋粉虱种群分别为 40 和 31 个，种群感染率为 93.0% 和 72.1%。*Arsenophonus* 和 *Cardinium* 的个体检测数分

表 1　海南地区螺旋粉虱 3 类次级内共生菌的检测结果

Table 1　Detection results of three secondary endosymbionts of *Aleurodicus dispersus* in Hainan

采样地点 Locality	经纬度(°) Latitude and longitude	寄主植物 Host plants	采样时间 Collecting time	*Arsenophonus* (II/DI)	*Cardinium* (II/DI)	*Wolbachia* (II/DI)
儋州那大 Nada, Danzhou	19.5N/109.6E	羊蹄甲 *Bauhinia blakeana*	2009.08.21	-(0/3)	+(1/3)	-(0/3)
乐东佛罗 Foluo, Ledong	18.6N/108.7E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.23	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
陵水英州 Yingzhou, Lingshui	18.4N/109.9E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.24	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
陵水英州 Yingzhou, Lingshui	18.4N/109.9E	榕树 *Ficus microcarpa*	2009.08.24	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
三亚海棠湾 Haitangwan, Sanya	18.3N/109.7E	枸杞 *Lycium chinense*	2009.08.24	+(3/3)	+(1/3)	-(0/3)
三亚海棠湾 Haitangwan, Sanya	18.3N/109.7E	羊蹄甲 *Bauhinia blakeana*	2009.08.24	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
三亚海棠湾 Haitangwan, Sanya	18.3N/109.7E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.24	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
三亚海棠湾 Haitangwan, Sanya	18.3N/109.7E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.24	+(2/3)	+(3/3)	-(0/3)
三亚海棠湾 Haitangwan, Sanya	18.3N/109.7E	木瓜 *Chaenomeles sinensis*	2009.08.24	+(3/3)	+(1/3)	-(0/3)
三亚保港 Baogang, Sanya	18.4N/109.1E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.23	+(2/3)	+(1/3)	+(1/3)
三亚天涯 Tianya, Sanya	18.3N/109.3E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.23	+(3/3)	+(3/3)	-(0/3)
五指山 Wuzhishan	18.8N/109.5E	未知 Unknown	2009.08.29	-(0/3)	+(1/3)	-(0/3)
万宁兴隆 Xinglong, Wanning	18.8N/110.4E	椰子 *Cocos nucifera*	2009.08.24	-(0/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼海加积 Jiaji, Qionghai	19.2N/110.5E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.25	+(3/3)	+(3/3)	-(0/3)
琼海加积 Jiaji, Qionghai	19.2N/110.5E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.25	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼海加积 Jiaji, Qionghai	19.2N/110.5E	木瓜 *Chaenomeles sinensis*	2009.08.25	+(3/3)	+(1/3)	-(0/3)
屯昌 Tunchang	19.4N/110.1E	木瓜 *Chaenomeles sinensis*	2009.08.25	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
屯昌 Tunchang	19.4N/110.1E	辣椒 *Capsicum annuum*	2009.08.25	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
屯昌 Tunchang	19.4N/110.1E	茄子 *Solanum melongena*	2009.08.25	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
屯昌 Tunchang	19.4N/110.1E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.25	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼中乌石 Wushi, Qiongzhong	19.1N/109.9E	榄仁 *Terminalis catappa*	2009.08.25	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼中乌石 Wushi, Qiongzhong	19.1N/109.9E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.25	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼中乌石 Wushi, Qiongzhong	19.1N/109.9E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.25	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
琼中营根 Yinggen, Qiongzhong	19.0N/109.8E	豆科植物 *Leguminosae* sp.	2009.08.29	+(3/3)	+(1/3)	-(0/3)
琼中营根 Yinggen, Qiongzhong	19.0N/109.8E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.29	+(2/3)	+(2/3)	-(0/3)
琼中营根 Yinggen, Qiongzhong	19.0N/109.8E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.29	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
保亭毛岸 Mao'an,Baoting	18.7N/109.6E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.29	+(1/3)	+(1/3)	-(0/3)
保亭毛岸 Mao'an, Baoting	18.7N/109.6E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.29	+(1/3)	-(0/3)	-(0/3)
保亭毛岸 Mao'an, Baoting	18.7N/109.6E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.30	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
白沙白沙 Baisha, Baisha	19.2N/109.4E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.31	+(2/3)	+ (3/3)	-(0/3)
白沙牙叉 Yacha, Baisha	19.2N/109.4E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.31	+(3/3)	+ (3/3)	-(0/3)
白沙牙叉 Yacha, Baisha	19.2N/109.4E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.08.31	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
澄迈福山 Fushan, Chengmai	19.8N/109.9E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.17	+(3/3)	+ (3/3)	-(0/3)
澄迈瑞溪 Ruixi, Chengmai	19.7N/110.1E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.09.17	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
澄迈永发 Yongfa, Chengmai	19.7N/110.2E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.17	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
澄迈永发 Yongfa, Chengmai	19.7N/110.2E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.19	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
临高和舍 Heshe, Lingao	19.6N/109.7E	榄仁 *Terminalis catappa*	2009.09.17	+(2/3)	+(1/3)	-(0/3)
定安新竹 Xinzhu, Dingan	19.6N/110.2E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.18	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
定安雷鸣 Leiming, Dingan	19.6N/110.3E	榄仁 *Terminalis catappa*	2009.09.19	+(3/3)	+(1/3)	-(0/3)
定安龙门 Longmen, Dingan	19.4N/110.3E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.08.25	-(0/3)	+(1/3)	-(0/3)
海口甲子 Jiazi, Haikou	19.6N/110.9E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.19	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)
文昌蓬莱 Penglai, Wenchang	19.5N/110.5E	印度紫檀 *Pterocarpus indicus*	2009.09.19	+(3/3)	-(0/3)	-(0/3)
文昌锦山 Jinshan, Wenchang	20.0N/110.7E	番石榴 *Psidium guajava*	2009.09.20	+(3/3)	+(2/3)	-(0/3)

-：检出阴性 Negatively detected；+：检出阳性 Positively detected. DI：检测个体数 Number of detected individuals；II：感染个体数 Number of infected individuals.

别为 120 和 93 个，感染个体检出数分别为 105 和 70，个体感染率为 87.5% 和 75.3%。这些检测结果表明，海南地区螺旋粉虱次级内共生菌 *Arsenophonus* 的感染率高于 *Cardinium* 的感染率。

表 2　3 类次级内共生菌及目的片段扩增引物

Table 2　Primers used in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5′-3′) Primer sequence	引物来源 References	引物用途 Use of primers
Ch-F	TACTGTAAGAATAAGCACCGGC	Zchori-Fein and	*Cardinium* 16S rDNA 扩增
Ch-R	GTGGATCACTTAACGCTTTCG	Perlman, 2004	Amplification of *Cardinium* 16S rDNA
Ars16S-F	AGTAGCACAGGCTAACTTAGTGCCAGCAGC	本研究设计	*Arsenophonus* 16S rDNA 扩增
Ars16S-R	TTCATGGAGTCGAGCGGCAGACTCCTATCC	Designed in this study	Amplification of *Arsenophonus* 16S rDNA
81F	TGG TCCAATAAGTGATGAAGAAAC	Braig *et al*., 1998	*Wolbachia wsp* 基因扩增
522R	ACCAGCTTTTGCTTG		Amplification of *Wolbachia wsp*

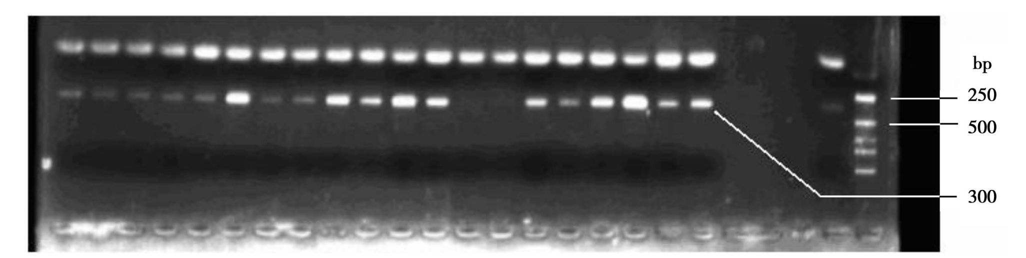


图 1　螺旋粉虱 *Cardinium* 16S rDNA 片段的 PCR 扩增

Fig. 1　PCR products of *Cardinium* 16S rDNA from *Aleurodicus dispersus*

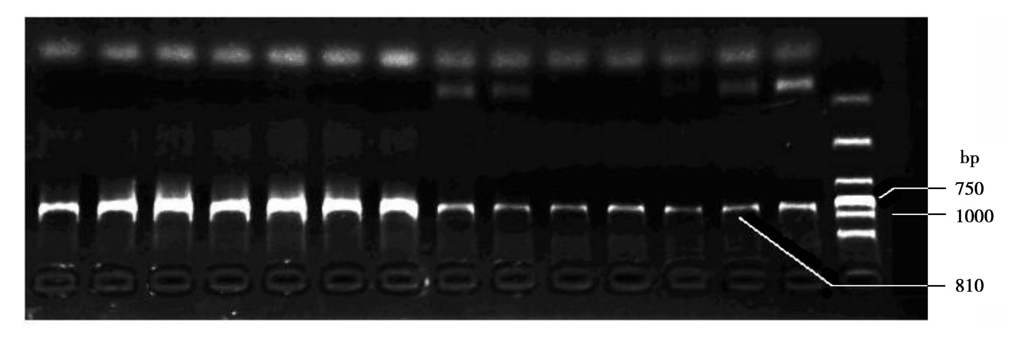


图 2　螺旋粉虱 *Arsenophonus* 16S rDNA 片段的 PCR 扩增

Fig. 2　PCR products of *Arsenophonus* 16S rDNA from *Aleurodicus dispersus*

表 3　海南地区螺旋粉虱 3 种次级内共生菌的感染率

Table 3　Infection rates of three secondary endosymbionts of *Aleurodicus dispersus* in Hainan

次级共生菌 Secondary endosymbionts	检测种群数 Number of detected populations	感染种群数 Number of infected populations	种群感染率(%) Infection rate of populations	检测个体数 Number of detected individuals	感染个体数 Number of infected individuals	个体感染率(%) Infection rate of individuals
Cardinium	43	31	72.1	93	70	75.3
Arsenophonus	43	40	93.0	120	105	87.5
Wolbachia	43	1	2.3	129	1	0.8

此外，在所检测的 43 个螺旋粉虱种群和 129 个样本中，只有三亚印度紫檀上的螺旋粉虱检测到 *Wolbachia*，种群感染率为 2.3%，样本个体感染率仅为 0.8%，即 *Wolbachia* 的感染率极低（表 1 和 3）。

2.3　序列分析及系统发育树的构建

2.3.1　*Cardinium* 16S rDNA 序列分析及系统发育树的构建：每个种群各选择 3 个样本进行测序，测序结果发现所有样本的 *Cardinium* 16S rDNA 序列完全一致，所以选取一条进行分析。将海南螺旋粉虱的 *Cardinium* 16S rDNA 序列（GenBank 登录号：JX962870）与 GenBank 中已有的 *Cardinium* 16S rDNA 序列进行 BLAST 比对和序列分析（图 3），并选择相似性较高的相关序列，运用 MEGA4.0 软件采用 Kimura 2-parameter 距离模型，构建系统发育树（图 4）。结果表明，螺旋粉虱的 *Cardinium* 16S rDNA 序列与烟粉虱的 *Cardinium* 16S rDNA 序列一致性最高，为 97.6%；由系统发育树也可以看出，海南螺旋粉虱的 *Cardinium* 与烟粉虱的 *Cardinium* 亲缘关系最近（图 3 和 4）。

```
Tetranychus cinnabarinus 1 AGTACTGTAAGAATAAGCACCGGCTAATTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAAGGTGCAAGCGTTATCCGGTTTTATTGGGTTAAA
Tetranychus cinnabarinus 2 ..........................................................................................
Encarsia formosa           ..........................................................................................
Bemisia tabaci             ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus      .................................................A........................................

Tetranychus cinnabarinus 1 GGGTGCGTAGGCGGCTTATTAAGTCAGTTGTGAAATCCTAGTGCTTAACGCTAGAACTGCAATTGATACTACTAGGCTTGAGTTAAGAAG
Tetranychus cinnabarinus 2 ..........................A...............................................................
Encarsia formosa           .......................................................................T.................T
Bemisia tabaci             .......................................................................T.................T
Aleurodicus dispersus      ..........................T............G...............................T.................T

Tetranychus cinnabarinus 1 AGGTAGGCAGAATTTATGGTGTAGTAGTGAAATGCTTAGATATCATAAGGAATACCAATAGCGTAGGCAGCTTACTGGTCTTTAACTGAC
Tetranychus cinnabarinus 2 ..........................................................................................
Encarsia formosa           .....A.T..................................................................................
Bemisia tabaci             .....A.T..................................................................................
Aleurodicus dispersus      ...A...T................C..........G.....................................T................

Tetranychus cinnabarinus 1 GCTGAGGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAG
Tetranychus cinnabarinus 2 ...............................
Encarsia formosa           ...............................
Bemisia tabaci             ...............................
Aleurodicus dispersus      ...............................
```

图 3　不同寄主 *Cardinium* 16S rDNA 的序列比对

Fig. 3　Sequence alignment of *Cardinium* 16S rDNA from different hosts

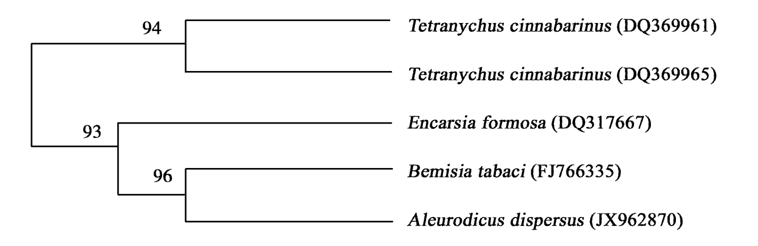


图 4　基于 *Cardinium* 16S rDNA 基因构建的系统树

Fig. 4　Phylogenetic tree based on *Cardinium* 16S rDNA

2.3.2　*Arsenophonus* 16S rDNA 序列分析及系统发育树的构建：每个种群各选择 3 个样本进行测序，测序结果发现所有样本的 *Arsenophonus* 16S rDNA 序列完全一致，所以选取一条进行分析。将海南螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 16S rDNA 序列（GenBank 登录号：JX962869）与 GenBank 中的 *Arsenophonus* 16S rDNA 序列进行 BLAST 比对和序列分析，并根据 GenBank 中登录的所有粉虱、木虱、粉蚧以及西班

牙加那利群岛螺旋粉虱的杀雄菌 *Arsenophonus* 16S rDNA 基因序列，运用 MEGA4.0 软件采用 Kimura 2-parameter 距离模型，构建系统发育树。结果表明，海南螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 16S rDNA 序列与西班牙加那利群岛螺旋粉虱 *Arsenophonus* 的序列一致性最高，但也仅为 85.1%，而与丽蝇蛹集金小蜂的 *Arsenophonus nasoniae* 一致性次之，为 84.1%，三者的序列比对见图 5；此外，由系统发育树也可以看出，海南螺旋粉虱和西班牙加那利群岛螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 亲缘关系最近(图 6)。

2.3.3 *Wolbachia wsp* 基因序列分析及系统发育树的构建：每个种群各选择 3 个样本进行测序，最终发现仅三亚印度紫檀上的螺旋粉虱中检测到 *Wolbachia*，所以选取仅有的一条序列进行分析。将海南螺旋粉虱的 *Wolbachia wsp* 基因序列(GenBank 登录号：JX962868)与 GenBank 中的 *Wolbachia wsp* 基因序列进行 BLAST 比对和序列分析(图 7)。根据相似序列，运用 MEGA4.0 软件采用 Kimura 2-parameter 距离模型，构建系统发育树(图 8)。结果表明，海南螺旋粉虱的 *Wolbachia* 与 A 组的水稻二化螟 *Chilo suppressalis* 和草间钻头蛛 *Hylyphantes graminicola* 的 *Wolbachia* 一致性仅为 72.1%，而与 B 组的柑橘木虱 *Diaphorina citri*、东亚小花蝽 *Orius sauteri* 和小黑花椿 *Orius strigicollis* 的 *Wolbachia wsp* 序列一致性为 91.3%，也就是说海南螺旋粉虱的 *Wolbachia* 属于 B 组(图 7 和 8)，这是国内螺旋粉虱感染 *Wolbachia* 的首次报道。

```
Arsenophonus nasoniae AACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGCACGCAGGCGGTTAATTAAGTTGGATGTGAAAT
Aleurodicus dispersus● ..........................................................................................................
Aleurodicus dispersus▲ T........................A...T......A................................T.T.......ATT.....CATTG........

Arsenophonus nasoniae CCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCATTCAAGACTGGTTAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGA
Aleurodicus dispersus● ...T..........A.............T................T...........A..A......................................
Aleurodicus dispersus▲ A..TA.........A....C.....AATGA....AAG.A......GCA.......AA...........G.......................T..C....

Arsenophonus nasoniae GGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCATGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTA
Aleurodicus dispersus● ........A.............T............A..........................................................T......
Aleurodicus dispersus▲ ........A...............TT......TG.C.........G.G...............T.................................C...

Arsenophonus nasoniae AACGATGTCGATTGGAGGCTGTGGTCAAGAACTGTGGCCTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATG
Aleurodicus dispersus● ...A.............T.......TT............T..T.........A.........................A.....................
Aleurodicus dispersus▲ ...T..A..A.C.A.CC.T..GAT.ATTA..TAA.TTAG.G..A..........A...G.T..T........A..............C............

Arsenophonus nasoniae AATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAAGCTTTTAGAGATAA
Aleurodicus dispersus● ........................................................A...........................T...C.........G
Aleurodicus dispersus▲ ..............................................................................A....AT...C......G.

Arsenophonus nasoniae AGGCGTGCCTTCGGGAACTTTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCT
Aleurodicus dispersus● ......T.........G.........................................................................................
Aleurodicus dispersus▲ .AAT.........................................................................T........T.......G....

Arsenophonus nasoniae TTGTTGCCAGCGATACGGTCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGC
Aleurodicus dispersus● ..........................................................................................................
Aleurodicus dispersus▲ .AT.......T.G..AT.G........TT...........T.....A....................C....................T...T.........

Arsenophonus nasoniae TACACACGTGCTACAATGGCGTATACAGAGAGAGGCGAGCCTGCGAGGGGAAGCGGAACTCAGAAAGTACGTCGAAGTCCGGATTGAGTCTGCACTCGACT
Aleurodicus dispersus● ...................G................A.................................T..A...........................
Aleurodicus dispersus▲ ......................A.G...A..G.TC..A.AA.G.TA.C.T.....TA.T.C.......ATT...TC...T...................C.C
```

图 5 不同寄主 *Arsenophonus* 16S rDNA 的序列比对

Fig. 5 Sequence alignment of *Arsenophonus* 16S rDNA from different hosts

圆点表示西班牙加那利群岛螺旋粉虱种群；三角表示海南螺旋粉虱种群。Canary Islands population is indicted by the dot and the Hainan Island population is indicated by the triangle.

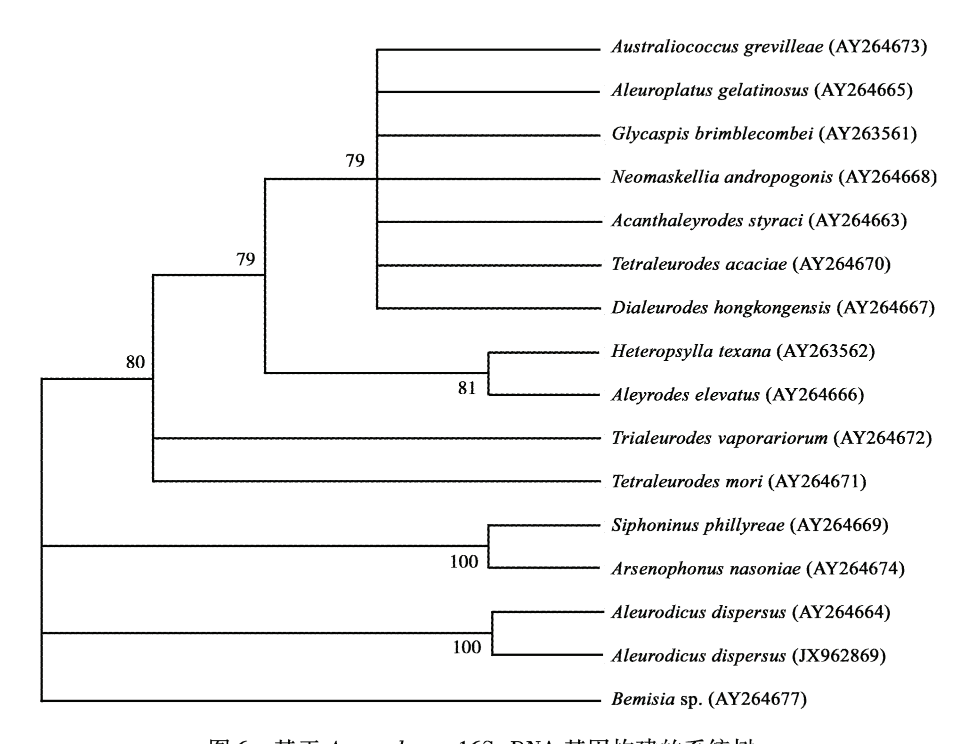


图 6 基于 *Arsenophonus* 16S rDNA 基因构建的系统树

Fig. 6 Phylogenetic tree based on *Arsenophonus* 16S rDNA

3 讨论

本研究中，海南地区螺旋粉虱的 *Wolbachia* 的种群感染率仅为 2.32%，这可能与 *Wolbachia* 在宿主的水平传递有关（Werren *et al.*, 1995；Schiltuizen and Stouthamer, 1997；Zhou *et al.*, 1998），也可能与螺旋粉虱生存的地理位置特异有关，亦或是与螺旋粉虱某种独特的生长代谢方式有关，而该生长代谢方式恰巧不适于 *Wolbachia* 侵染，关于这些问题还有待进一步讨论研究。相比 *Wolbachia*，海南螺旋粉虱的 *Cardinium* 和 *Arsenophonus* 两种次级共生菌的感染率较高，这可能与 *Cardinium* 可以通过调控寄主生殖方式来增加寄主感染率有关（Weeks and Breeuwer, 2001；Chai *et al.*, 2011），还可能是由于 *Wolbachia* 与 *Cardinium* 存在竞争，导致某一方的菌量降低，当降至某一水平时就不能引起细胞质不亲和（Ros *et al.*, 2009；庞淑婷等, 2010），除唯一检测到 *Wolbachia* 侵染的三亚印度紫檀外，三亚其他寄主上的 *Cardinium* 和 *Arsenophonus* 两种次级共生菌的感染率均大于或等于 66.7%。

有研究表明，次级内共生菌是短期发生的且不稳定，对宿主的生存不是必需的。但也有研究发现，次级内共生菌有助于昆虫宿主热胁迫恢复，在寄主对不同植物的利用能力等方面也起着重要的作用；当初级共生菌缺失或功能失调时，次级共生菌也可以增强昆虫的存活能力和繁殖力；次级内共生菌可能对宿主的适合度、竞争能力乃至宿主的进化等方面具有影响（Montllor *et al.*, 2002；Zchori-Fein and Brown, 2002；Koga *et al.*, 2003；Leonardo and Muiru, 2003；Tsuchida *et al.*, 2004；Xue *et al.*, 2012）。

本研究表明，虽然海南螺旋粉虱和西班牙加那利群岛螺旋粉虱的 *Arsenophonus* 亲缘关系最近，但二者的 16S rDNA 的一致性也仅为 85.1%，由此推测海南螺旋粉虱和西班牙加那利群岛螺旋粉虱可能存在较大的遗传分化，这可能是由于较大的地理隔离所致。有关这两个地区螺旋粉虱的亲缘关系还有待进一步研究。

本研究还发现，海南地区不同市县的螺旋粉虱种群的 *Cardinium* 16S rDNA 序列完全一致，*Arsenophonus* 16S rDNA 序列亦是如此，这可能与传入海南的螺旋粉虱来源相同以及传入的年限短（2006 年在海南首次报道），不同种群还未发生明显的遗传分化有关；同时也可能与次级内共生菌和寄主的协同进化关系短暂、松散以及次级共生菌在寄主体内的传播方式有关（Werren and Windsor, 2001；Baldo *et al.*, 2002, 2006）。因此，若要更有

```
Orius sauteri          TAGCTACTACGTTCGTTTACATACAACGGTGAAATTTTACCTTTTTATACAAAAGTTGATGGTATTACAAATGCAACAGGTAAAGAAAAG
Orius strigicollis     ..........................................................................................
Diaphorina citri       ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus  GGA.C.AAGAT.......T..........C...................A........................................
Chilo suppressalis     ......T...........G..............G........C...TC.......................C..T..G.A..C..CCG.A
Hylyphantes graminicola ......T...........G..............G........C...TC.......................C..T..G.A..C..CCG.C

Orius sauteri          GATAGTCCCTTAACAAGATCTTTTATAGCTGGTGGTGGTGCATTTGGTTATAAAATGGATGACATTAGAGTTGATGTTGAAGGGCTTTAC
Orius strigicollis     ..........................................................................................
Diaphorina citri       ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus  ..........................................................................................
Chilo suppressalis     AC..C.GAT..G....CG...........C....................C........C..T..C..................A....T
Hylyphantes graminicola AC..C.GAT..G....CG...........C....................C........C..T..C..................A....T

Orius sauteri          TCACAATTGGCTAAAGATACAGCTGTAGTAAATACTTCTGAAACAAATGTTGCAGACAGTTTAACAGCATTTTCAGGATTGGTTAACGTT
Orius strigicollis     ..........................................................................................
Diaphorina citri       ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus  .................................G.........A..............................................
Chilo suppressalis     ...TGGC.AAA.........TAGC...ACTGG.G..C.A.T.GG.GGA......A.T.AC.........A.......GC.A.....T...
Hylyphantes graminicola ...TGGC.AAA.........TAGC...ACTGG.G..C.A.T.GG.GGA......A.T.AC.........A.......GC.A.....T...

Orius sauteri          TATTACGATATAGCGATTGAAGATATGCCTATCACTCCATACGTTGGTGTTGGTGTTGGTGCAGCATATATCAGCAATCCTTCAAAAGCT
Orius strigicollis     ..........................................................................................
Diaphorina citri       ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus  ......................................G...................................................
Chilo suppressalis     .....T...G....A.................T.........A......C...................G.A..........T.GC.A.A
Hylyphantes graminicola .....T...G....A.................T.........A......C...................G.A..........T.GC.A.A

Orius sauteri          GATGCAGTTAAAGATCAAAAAGGATTTGGTTTTGCTTATCAAGCAAAAGCTGGTGTTAGTTATGATGTAACTCCAGAAATCAAACTCTTT
Orius strigicollis     ..........................................................................................
Diaphorina citri       ..........................................................................................
Aleurodicus dispersus  A...A..................................................................C..................
Chilo suppressalis     A.A.TTAC.GGT...A..G.T.........G............................C.......................G..T.A.
Hylyphantes graminicola A.A.TTAC.GGT...A..G.T.........G............................C.......................G..T.A.
```

图 7 不同寄主 *Wolbachia wsp* 核苷酸序列比对

Fig. 7 Nucleotide sequence alignment of *Wolbachia wsp* from different hosts

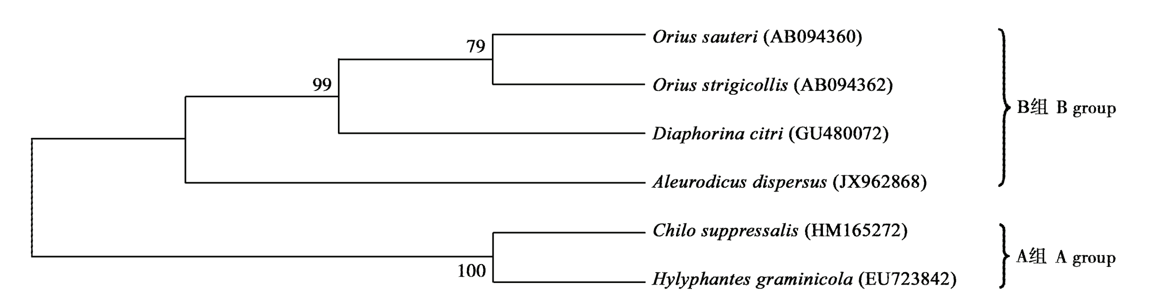


图 8 基于 *Wolbachia wsp* 基因构建的系统树

Fig. 8 Phylogenetic trees based on *Wolbachia wsp* gene

效地研究螺旋粉虱的地理种群分化，除了需要增加检测螺旋粉虱内次级共生菌种群数量，尤其是外域种群，如台湾种群、印度种群、加利福尼亚种群等，还需要用微卫星、rDNA ITS 基因序列等分子标记对螺旋粉虱本身的种群遗传分化进行研究。通过不同地理种群内共生菌的研究，有助于了解螺旋粉虱的遗传分化和内共生菌的协同进化关系，也有助于了解海南地区螺旋粉虱的传入路径及其地理分布格局演替，为中国其他省份，如福建、广东、广西等螺旋粉虱适生区（沈文君和万方浩，2007）预防和监测螺旋粉虱提供理论指导。

参考文献（References）

Baldo L, Bartos JD, Werren JH, Bazzocchi C, Casiraghi M, Panelli S, 2002. Different rates of nucleotide substitutions in *Wolbachia* endosymbionts of arthropods and nematodes: arms race or host shifts? *Parasitologia*, 44: 179 – 187.

Baldo L, Bordenstein S, Wernegreen JJ, Werren JH, 2006. Widespread recombination throughout *Wolbachia* genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 437 – 449.

Braig HR, Zhou WG, Dobson SL, O'Neill SL, 1998. Cloning and characterization of a gene encoding the major surface protein of the bacterial endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Journal of Bacteriology*, 180: 2373 – 2378.

CABI, 1993. *Aleurodicus dispersus* Russell. Distribution maps of pests. Series A Map No. 476.

Cao FQ, Liu WX, Chen P, Hao HH, Cheng LS, 2010. Survey on the host plants and population dynamics of *Aleurodicus dispersus* Russell in Lingshui county of Hainan Island. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 38(6): 2996 – 2999. [曹凤勤，刘万学，陈攀，郝慧华，程立生，2010. 海南陵水县螺旋粉虱寄主植物及发生动态研究. 安徽农业科学，38(6): 2996 – 2999]

Chai HN, Du YZ, 2011. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia wsp* in the *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Crambidae) in China. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(5): 998 – 1004.

Chenna R, Sugawara H, Koike T, Lopez R, Gibson TJ, Higgins DG, Thompson JD, 2003. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. *Nucleic Acids Research*, 31(13): 3497 – 3500.

Douglas AE, 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses. *Annual Review of Entomology*, 43: 17 – 37.

Gherna RL, Werren JH, Weisburg W, Cote R, Woese CR, Mandelco L, Brenner DJ, 1991. *Arsenophonus nasoniae* gen-nov., sp. nov, the causative agent of the son-killer trait in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41(4): 563 – 565.

Han DY, Liu K, Chen W, Fan ZW, Peng ZQ, Huang WR, Yu GY, Zhang GL, Fu YG, 2008. Distribution and host plants of the spiraling whitefly, *Aleurodicus disperses*, in Hainan. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(5): 765 – 770. [韩冬银，刘奎，陈伟，范志伟，彭正强，黄武仁，虞国跃，张国良，符悦冠，2008. 螺旋粉虱在海南的分布与寄主植物种类调查. 昆虫知识，45(5): 765 – 770]

Hoffmann AA, Turelli M, 1997. Cytoplasmic incompatibility in insects. In: O'Neill S, Hoffman A, Werren J eds. Influential Passengers: Inherited Microorganisms and Arthropod Reproduction. Oxford University Press, Oxford. 42 – 80.

Koga R, Tsuchida T, Fukatsu T, 2003. Changing partners in an obligate symbiosis: a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid. *Proceedings of the Royal Society of London*, *Series B*, 70 (1533): 2543 – 2550.

Lambkin TA, 1999. A host list for *Aleurodicus dispersus* Russell (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. *Australian Journal of Entomology*, 38: 373 – 376.

Leonardo TE, Muiru GT, 2003. Facultative symbionts are associated with host plant specialization in pea aphid populations. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 270(2): 209 – 212.

Mani M, Krishinamoorthy A, 1999. Natural enemies and host plants of spiralling whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russell (Homoptera: Aleyrodidae) in Bangalore, Karnataka. *Entomology*, 24: 75 – 80.

Montllor CB, Maxmen A, Purcell AH, 2002. Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrthosiphon pisum* under heat stress. *Ecological Entomology*, 27(2): 189 – 195.

Moran NA, Plague GR, Sandstrom JP, Wilcox JL, 2003. A genomic perspective on nutrient provisioning by bacterial symbionts of insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 14543 – 14548.

Neuenschwander P, 1994. Spiraling whitefly, *Aleurodicus dispersus*, a recent invader and new cassava pest. *African Crop Science Journal*, 2(4): 419 – 421.

Nirgianaki A, Banks GK, Frohlich DR, Veneti Z, Braig HR, Miller TA, Bedford ID, Markham PG, Savakis C, Bourtzis K, 2003. *Wolbachia* infections of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Current Microbiology*, 47(2): 93 – 101.

Pang ST, Jiang TT, Wang L, Shi ZH, 2010. An overview of research on symbiont *Cardinium* in arthropod. *Chinese Journal of Biological Control*, 26(2): 217 – 223. [庞淑婷，江婷婷，汪亮，施祖华，2010. 节肢动物共生菌 *Cardinium* 的研究概况. 中国生物防治，26(2): 217 – 223]

Ramani S, Poorani J, Bhumannavar BS, 2002. Spiraling whitefly, *Aleurodicus dispersus*, in India. *Biocontrol News and Information*, 23: 55 – 62.

Ros VI, Fleming VM, Feil EJ, Breeuwer JA, 2009. How diverse is the genus *Wolbachia*? Multiple-gene sequencing reveals a putatively new *Wolbachia* supergroup recovered from spider mites (Acari: Tetranychidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4): 1036 – 1043.

Russell LM, 1965. A new species of *Aleurodicus* Douglas and two close relatives (Homoptera: Aleyrodidae). *Florida Entomologist*, 48 (1): 47 – 55.

Schiltuizen M, Stouthamer R, 1997. Horizontal transmission of parthenogenesis-inducing microbes in *Trichogramma* wasps. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 264: 361 – 366.

Shen WJ, Wan FH, 2007. Analysis of potential distributive areas for *Aleurodicus dispersus* in China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44 (3): 367 – 371. [沈文君，万方浩，2007. 入侵害虫螺旋粉虱及其在我国的适生区预测. 昆虫知识，44(3): 367 – 371]

Thao ML, Baumann P, 2004a. Evidence for multiple acquisition of *Arsenophonus* by whitefly species (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Current Microbiology*, 8: 140 – 144.

Thao ML, Baumann P, 2004b. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6): 3401 – 3406.

Tsuchida T, Koga R, Fukatsu T, 2004. Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science*, 303(5666): 1989.

Wang DH, Wu WJ, Fu YG, 2012. Bacterial community in *Aleurodicus dispersus* (Hemiptera: Aleyrodidae) estimated by PCR-DGGE and 16S rRNA gene library analysis. *Acta Entomologica Sinica*, 55(7): 772 –781. [王甸洪, 吴伟坚, 符悦冠, 2012. 螺旋粉虱成虫体内细菌群落多样性的 PCR-DGGE 和 16S rRNA 文库序列分析. 昆虫学报, 55(7): 772 –781]

Weeks AR, Breeuwer JA, 2001. *Wolbachia*-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 268: 2245 –2251.

Wen HC , Hsu TC, Chen CN, 1994. Supplementary description and host plants of the spiraling whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russell. *Chinese Journal of Entomology*, 14(2): 147 –161. [温宏治, 许洞庆, 陈秋南, 1994. 螺旋粉虱之形态补述及寄主植物. 中华昆虫, 14(2): 147 –161]

Wen HC, Hsu TC, Chen CN, 1997. Review on the spiralling whitefly, *Aleurodicus dispersus* Russell. *Plant Protection Bulletin* (*Taipei*), 39 (2): 139 –149. [温宏治, 许洞庆, 陈秋男, 1997. 螺旋粉虱之综述. 植保会刊, 39(2): 139 –149]

Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology*, 42: 587 –609.

Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6: 741 –751.

Werren JH, Windsor DM, 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 267: 1277 –1285.

Werren JH, Zhang W, Guo LR, 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 261: 55 –63.

Xue X, Li SJ, Ahmed MZ, De Barro PJ, Ren SX, Qiu BL, 2012. Inactivation of *Wolbachia* reveals its biological roles in whitefly host. *PLoS ONE*, 7(10): e48148.

Yu GY, 2011. Spiraling Whitefly (*Aleurodicus dispersus* Russell) and Its Natural Insect Enemies. Science Press, Beijing. [虞国跃, 2011. 螺旋粉虱及其天敌昆虫. 北京: 科学出版社]

Yu GY, Zhang GL, Peng ZQ, Liu K, Fu YG, 2007. The spiraling whitefly, *Aleurodicus dispersus*, invaded Hainan Island of China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(3): 428 –431. [虞国跃, 张国良, 彭正强, 刘奎, 符悦冠, 2007. 螺旋粉虱入侵我国海南. 昆虫知识, 44(3): 428 –431]

Zchori-Fein E, Brown JK, 2002. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of American*, 95(6): 711 –718.

Zchori-Fein E, Perlman SJ, 2004. Distribution of the bacterial symbiont *Candinium* in arthropods. *Molecular Ecology*, 13(7): 2009 –2016.

Zhong BZ, Lv CJ, Ma ZL, Peng ZQ, Qin WQ, Wang Z, Li H, 2009. Advances in occurrence and integrated control of *Aleurodicus disperses*. *Subtropical Agriculture Research*, 5(3): 173 –175. [钟宝珠, 吕朝军, 马子龙, 彭正强, 覃伟权, 王智, 李洪, 2009. 螺旋粉虱发生及综合防治研究进展. 亚热带农业研究, 5(3): 173 –175]

Zhou W, Rousset F, O'Neill SL, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 265: 509 –515.

(责任编辑: 赵利辉)